

BIOTHÉRAPIES EN NEUROCHIRURGIE: EXEMPLE DE LA MALADIE DE PARKINSON

BIOETHERAPIES IN NEUROSURGERY: AN EXAMPLE IN PARKINSON'S DISEASE

Par Stéphane PALFI ⁽¹⁾

(Communication présentée le 10 Mars 2016

Manuscrit accepté le 3 Mai 2016)

RÉSUMÉ

La maladie de Parkinson (MD) est principalement liée à une perte de neurones de la substance noire qui projettent des axones dopaminergiques vers le striatum. Bien que le traitement, par la L-Dopa et/ou les agonistes dopaminergiques, permette d'obtenir un effet bénéfique clinique au début de la MP, les traitements oraux perdent de leur efficacité avec le temps et entraînent des effets indésirables moteurs et non-moteurs. L'un des défis thérapeutiques actuels serait d'induire une sécrétion continue et locale de dopamine, plus physiologique, afin de prévenir l'apparition de ces effets indésirables. Des stratégies thérapeutiques utilisant les biothérapies constitueraient l'étape logique pour une administration locale et continue de dopamine. Des études ont été entreprises depuis plus de 30 ans maintenant sur les greffes neuronales de neurones produisant de la dopamine et sur des approches de thérapie génique. Dans cette revue, nous abordons l'histoire et les perspectives de ces approches thérapeutiques dans la MP.

Mots-clés : thérapie génique, greffes neuronales, cellules souches, dopamine, maladie de Parkinson.

ABSTRACT

Parkinson disease (PD) is mainly characterized by a severe loss of substantia nigral neurons that provide dopaminergic innervation to the striatum. Although L-Dopa and dopaminergic agonists treatment provide a significant clinical benefit at the earliest stage of the disease, these drugs were soon recognized to lose some of their efficacy and generate their own adverse effects both motors and non-motors over time. One of the therapeutic challenges is to induce a more physiological continuous and local release of dopamine in the striatum to avoid these adverse effects. Thus, dopamine replacement strategies using biotherapies seemed to be the next logical step, and studies were initiated over the last 30 years to explore the possibility of dopaminergic cell transplantation and gene therapy. In this review, we outline the history and the future of these therapeutic approaches to PD.

Key words: gene therapy, neural grafting, stem cells, dopamine, Parkinson's disease.

INTRODUCTION

Les concepts élaborés sur l'organisation architecturale et fonctionnelle du cerveau de mammifères adultes ont considérablement évolué en neurosciences ces dernières décennies avec l'avènement d'une nouvelle dimension à prendre en considération: le temps. Ainsi, chaque neurone et par extension chaque réseau neuronal apprend continuellement en modifiant son activité en fonction du contexte environnemental cellulaire

et en fonction de son histoire et de son âge. La définition de la plasticité neuronale repose sur les capacités de chaque neurone à modifier sa propre structure et sa fonction. Loin d'être inflexible, le système nerveux se façonne continuellement en créant de nouveaux contacts synaptiques avec les structures neuronales afférentes et efférentes. Ces phénomènes physiologiques ne s'observent pas seulement d'un point de vue

(1) Professeur Stéphane Palfi,
Hôpital Henri Mondor APHP, Université Paris Est Créteil, IMRB U955 eq 14. DHU PePsy, 51 Av du Maréchal de Lattre de Tassigny 94000 Créteil France.
Tél. : 0149812203
Mail : stephane.palfi@aphp.fr

macroscopique mais également à un niveau microscopique et entre chaque neurone qui se retrouve ainsi en perpétuel équilibre dynamique. De cette manière, ces neurones ou groupes de neurones participent aux mécanismes de compensation observés après une lésion aiguë ou prolongée du système nerveux.

La notion de plasticité du système nerveux a offert de nouvelles perspectives thérapeutiques qui se sont développées durant ces 30 dernières années. Grâce à cette plasticité, il devient en effet possible d'intégrer de nouveaux neurones ou bien d'interagir à un niveau intracellulaire afin de restaurer des fonctions perdues (Isacson & Deacon, 1997). Ces approches reposent sur deux concepts que les études dans les modèles animaux ont clairement démontré. Premièrement, il est possible que des cellules exogènes survivent à une transplantation, se développent et s'intègrent dans un système nerveux même altéré par une maladie neurodégénérative (Marty & Peschanski, 1995). Deuxièmement, les techniques de transfert de gènes permettent aujourd'hui avec une excellente tolérance clinique, l'expression sur le long terme de protéines d'intérêts thérapeutiques (Palfi *et al.* 2014).

Dans cette revue, nous décrivons les différentes voies thérapeutiques impliquant des biothérapies telles que les greffes neuronales ou le transfert de gènes pour traiter la maladie de Parkinson.

La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative caractérisée cliniquement par l'apparition de symptômes moteurs tels que la rigidité, l'akinésie, le tremblement, des troubles de la marche et de la posture. Les patients ayant une MP souffrent également de symptômes non-moteurs tels que des troubles du sommeil, des déficits cognitifs, des symptômes psychiatriques ou bien neurovégétatifs. Les études histologiques de la MP ont montré une profonde perte neuronale dans diverses zones cérébrales avec une atteinte plus prononcée au sein des noyaux dopaminergiques de la substance noire pars compacta (A9) et de l'aire tegmentale ventrale (A10) qui projettent des axones vers le striatum (Bernheimer *et al.* 1973). L'évolution de la MP est marquée par une progression de la dégénérescence des neurones dopaminergiques, de l'implication d'autres types de circuits neuronaux résultant à l'aggravation des symptômes cliniques et une perte d'efficacité des thérapies existantes. Le traitement actuel repose principalement sur la restauration des concentrations en dopamine dans le striatum avec l'administration du précurseur de la dopamine, la L-Dopa, métabolisée par les neurones en dopamine. Alors que la réponse au traitement est remarquablement efficace dans les premiers stades de la MP, des effets indésirables moteurs surviennent après quelques années de traitement sous la forme de dyskinésies, de fluctuations motrices associées à des troubles non-moteurs induits par les traitements dopaminergiques.

Ainsi, en parallèle de la recherche sur de nouvelles molécules permettant de protéger contre la dégénérescence neuronale,

d'empêcher la diffusion de dépôt d'alpha-synucleine ou bien de substituer la déplétion dopaminergique, des approches neurochirurgicales symptomatiques et restauratives se sont développées. Elles incluent des stratégies de modulation de l'activité neuronale par stimulation électrique de zones devenues non fonctionnelles en raison de la dénervation dopaminergique. Selon ce concept, la stimulation cérébrale profonde du Noyau Sous Thalamique, du Globus Pallidus Interne ou du Thalamus a été élaborée à partir de la fin des années 1980, et reconnue actuellement efficace chez environ 10% des patients atteints d'une forme modérée à sévère de la MP (Limousin *et al.* 1995). Les principales difficultés de mise en œuvre de cette approche neurochirurgicale résident dans l'implantation précise des électrodes de stimulation dans des cibles cérébrales profondes. Les inconvénients à moyen et long termes de cette méthode de traitement sont liés aux défaillances potentielles du dispositif médical (Batterie, compatibilité IRM, infections, défaillances techniques...). Les effets indésirables en dehors de l'acte chirurgical sont principalement observés sur les signes axiaux tels que la majoration de la dysarthrie, de troubles de la marche (Rezai *et al.* 2006).

Les autres méthodes neurochirurgicales, en cours d'investigation préclinique et clinique, ont pour objectif de restaurer un tonus dopaminergique en apportant la dopamine de manière continue et locale dans le striatum.

GREFFES NEURONALES

Des premières cellules de médullosurrénales aux allogreffes de neurones fœtaux

Les cellules médullaires de la surrénale ont été les premières implantées chez les patients atteints par la MP (Madrazo *et al.* 1987). Le rationnel scientifique était basé sur les capacités de ces cellules endocrines à produire de la noradrénaline et de la dopamine. Cependant, les premières études avec les cellules médullaires de la surrénale ont montré des bénéfices comportementaux très modestes au prix de nombreux effets indésirables souvent sévères principalement liés à la surrénalectomie et la transplantation cellulaires par craniotomie (Goetz *et al.* 1989).

Très tôt, les cellules fœtales mesencéphaliques ventrales dopaminergiques (fMV) issues d'interruptions volontaires de grossesse ont constitué une source alternative de neurones produisant de la dopamine. En effet, de très nombreuses recherches dans des modèles animaux chez le rongeur et le primate non-humain ont démontré que ces neurones dopaminergiques pouvaient se développer, produire localement de la dopamine et restaurer les fonctions motrices comportementales (Bjorklund & Steveni 1979; Dunnett *et al.* 1981). La perte des bénéfices fonctionnels lorsque la greffe neuronale était rejetée ou lésée renforçait la spécificité du bénéfice clinique observé (Brundin *et al.* 1989; Dunnett *et al.* 1988).

Les premiers essais cliniques de phase I/II, en ouvert, ont montré une bonne tolérance de la procédure avec des signes

encourageants d'efficacité sur les déficits moteurs, une réduction du traitement dopaminergique oral pour quelques patients ainsi qu'une augmentation de la recapture de la 18F-Dopa dans le striatum greffé (Widner *et al.* 1992 ; Lindwall *et al.* 1990, 1994; Peschanski *et al.* 1994, Freeman *et al.* 1995, Wenning *et al.* 1997). Les études neuropathologiques ont montré que les neurones foetaux ont pu réinnervier le striatum hôte et établir des contacts synaptiques (Kordower *et al.* 1995, 1998).

Dans les années 2000, deux importantes études biomédicales randomisées, en double aveugle ont été réalisées comparant des patients greffés avec des fVM avec des patients ayant reçu une chirurgie placebo. Bien que ces études semblaient pleinement justifiées, elles ont été réalisées de manière trop précoce dans la mesure où les techniques de transplantation neuronale n'étaient pas encore optimisées. Ces deux études ont inclus des patients à un stade sévère de la MP. Les patients du groupe traité ont reçu des greffes striatales contenant des quantités variables de tissu fVM suivi d'un traitement immunosuppresseur également variable (Freed *et al.* 2001; Olanow *et al.* 2003).

Dans la première étude, les investigateurs ont testé des procédures neurochirurgicales d'implantation inhabituelles par rapport aux techniques utilisées jusqu'alors et l'introduction de faibles quantités de fVM en l'absence de traitement immunosuppresseur de couverture. Les résultats ont montré que les patients transplantés n'avaient pas de bénéfice clinique significatif sur le critère principal de jugement, 12 mois après l'implantation. De plus, des événements indésirables comme des dyskinésies sans traitement dopaminergique ont été retrouvés chez 15 % des patients. L'une des explications la plus vraisemblable est celle de la création de zone de greffes hétérogènes dans le striatum en raison de la faible quantité et la faible survie de cellules implantées (Ma *et al.* 2002 ; Hagell *et al.* 2002).

Dans la seconde étude biomédicale randomisée, il n'a pas été démontré non plus d'effet clinique significatif en comparant les groupes (placebo versus 2 fVM greffés et 4 fVM greffés). Des signes d'amélioration clinique dans le groupe de patients ayant reçu le plus de cellules fVM ont cependant été observé à 6 mois, date de l'arrêt de l'immunosuppression. Cette fois ci, 56,5% des patients ayant eu une greffe neuronale de neurones fVM ont présenté des dyskinésies invalidantes en l'absence de traitement dopaminergique, nécessitant pour certains la réalisation d'une stimulation cérébrale profonde pour traiter les dyskinésies. Pourquoi autant de patients ont-ils développé des dyskinésies liées aux greffes neuronales ? Cette question n'est pas complètement élucidée. Seuls des facteurs favorisants ont été reconnus sur des études effectuées dans des modèles animaux tels que des greffons striataux hétérogènes, la présence de neurones sérotoninergiques dans les greffes neuronales induisant la libération de dopamine de manière non régulée, des réactions inflammatoires en l'absence de traitements immunomodulateurs efficaces ou la conséquence d'un excédent de production locale de dopamine (Politis *et al.* 2010, 2011).

Ces deux études randomisées ont abouti aux mêmes conclusions. Les greffes de fVM n'ont pas montré d'amélioration clinique significative et induisent de surcroît des effets indésirables non acceptables incluant les dyskinésies en l'absence de traitement dopaminergique. Cependant, quelques patients ayant reçu une greffe de neurones fVM ont eu un bénéfice clinique significatif permettant, un arrêt de tout traitement dopaminergique oral sur le long terme et sans effet indésirable.

En Europe, les conclusions de ces deux études randomisées ont été considérées comme préliminaires dans la mesure où les techniques de transplantation neuronale n'étaient pas complètement abouties et qu'elles pourraient être optimisées dans plusieurs domaines. Ainsi, un groupe de travail a été constitué pour identifier les facteurs d'amélioration des techniques de transplantation parmi lesquelles la disponibilité et la qualité des neurones dopaminergiques constituent des éléments fondamentaux pour le succès de cette thérapeutique (Barker *et al.* 2013 ; TRANSEURO, [http://www.transeuro.org.uk/\(2014\)\)](http://www.transeuro.org.uk/(2014))).

Autres cellules dopaminergiques : les cellules souches

Bien que les neurones fVM semblent induire chez quelques patients un bénéfice clinique à long terme, les greffes de fVM ne semblent pas être une solution thérapeutique d'avenir dans la MP dans la mesure où ces cellules sont très compliquées à collecter en nombre suffisant (trois à quatre embryons par hémisphère) et pose des problèmes éthiques, de logistique et de sécurité dans le recueil de ces cellules.

Ainsi, d'autres sources de cellules dopaminergiques ont été étudiées en parallèle. Ces approches alternatives incluent les xéngreffes des neurones mésencéphaliques porcins, les autogreffes de cellules carotidiennes, les cellules épithéliales pigmentaires rétinienne (RPE), et les cellules reliées à des micro-transporteurs (Spheramine) (Schumacher *et al.* 2000; Arjona *et al.* 2003 ; Minguez-Castellanos *et al.* 2007; Stover & Watts, 2008). Dans tous les cas, les études précliniques ont montré des signes d'efficacité comportementale inférieurs par rapport aux allogreffes de fVM. Il n'est donc pas surprenant que les études cliniques aient été également plus décevantes (Gross *et al.* 2011).

Plus récemment, de nouvelles lignées de cellules dopaminergiques ont été élaborées à partir de cellules souches embryonnaires humaines (human Embryonic Stem Cell: hESC). Les stratégies initiales pour créer ces lignées de neurones dopaminergiques à partir des hESC ont été établies sur les principes qui gouvernent le développement du système nerveux (Kawasaki *et al.* 2000; Kim *et al.* 2002). Ainsi, un nombre important de protocoles de différenciation a été élaboré dans lesquelles les cellules hESC ont été co-cultivées avec des lignées de cellules stromales murines, ou bien avec des astrocytes ou encore avec des facteurs de croissance de fibroblastes (fibroblast growth factor 8 (FGF8)) et la protéine Sonic Hedgehog (Perrier *et al.* 2004; Roy *et al.* 2006 ; Yang *et al.*

2008 ; Cooper *et al.* 2010). Ces protocoles de différenciation ont permis d'obtenir des neurones de phénotype dopaminergique exprimant la Tyrosine Hydroxylase (TH), capables de sécréter et libérer de la dopamine. En revanche, aucune de ces lignées n'a été capable d'exprimer des facteurs de transcription requis pour le phénotype mésencéphalique appelé FOXA2 et LMX1A pourtant considéré comme indispensable pour induire un effet clinique significatif. Cela permettait d'expliquer pourquoi les allogreffes de hESC dans le striatum induisaient des effets comportementaux initiaux très modestes. De plus, des cellules hESC étaient incomplètement différenciées et pouvaient donner naissance dans certains cas à la formation de tumeurs (Park *et al.* 2005).

En 2006, la démonstration que des cellules pluripotentes pouvaient être induites à partir de fibroblastes humains engendra une nouvelle avancée majeure dans le domaine des greffes neuronales et permis de créer une nouvelle source de cellules appelée: Human Induced Pluripotent Stem Cell (hiPSC) (Takahashi *et al.* 2007). En effet, beaucoup d'espoir a été placé sur ces cellules hiPSC dans la mesure où les cellules sont immuno-compatibles pour chaque patient et spécifiques pour chaque maladie par l'orientation de la différenciation. En théorie, cette approche éviterait un nombre important de problèmes éthiques qui pourraient être associés à la l'utilisation de lignées de cellules souches embryonnaires. En effet, il devient maintenant clair que les hiPSC répondent de manière similaire aux hESC en terme de maturation neuronale, de culture cellulaire et peuvent être différenciées en cellules dopaminergiques avec des protocoles très semblables (Soldner *et al.* 2009). Cependant, comme les neurones dopaminergiques dérivés de cellules hESC, l'acquisition du phénotype mésencéphalique n'est pas évident et les performances *in vivo* dans les modèles animaux restaient toujours relativement modestes (Hargus *et al.* 2010).

Récemment, les protocoles de différenciation des cellules souches ont été affinés depuis la mise en évidence de l'origine et la maturation des neurones dopaminergiques à partir du plancher de la partie ventrale du tube neural (Placzek *et al.* 2005). Ainsi, de nouvelles méthodes de différenciation ont pu émerger et ont permis d'obtenir d'authentiques neurones dopaminergiques fonctionnels de phénotype mésencéphaliques aussi bien avec les hESC qu'avec les hiPSC (Kriks *et al.* 2011). Ces lignées ont montré cette fois-ci une survie remarquable avec une récupération fonctionnelle plus robuste et équivalente à celle observée avec les fVM (Kriks *et al.* 2011; Rath *et al.* 2013). De plus, elles auraient la capacité d'induire une croissance axonale sur de plus grandes distances et vers des cibles spécifiques (Grealish *et al.* 2014). Toutes ces améliorations se sont produites en l'absence de formation de tumeur ou d'excès de croissance des greffons. En conséquence, toutes ces avancées scientifiques récentes rendent maintenant cette approche envisageable pour une application clinique.

THÉRAPIE GÉNIQUE

Plusieurs concepts pour différentes stratégies thérapeutiques possibles

L'approche de thérapie génique *in vivo* consiste à faire exprimer directement un gène par les cellules intrinsèques du tissu nerveux. Administrées directement dans le tissu cérébral, cette technique permet d'apporter, de manière durable et constante, des protéines d'intérêt thérapeutique derrière la barrière hémato-encéphalique très souvent infranchissable par les grosses molécules. De plus, l'apport de gènes thérapeutiques directement injecté dans une région spécifique du cerveau permet d'induire une expression locale des transgènes. Ce qui peut être un atout considérable en neurologie car la spécificité et l'hétérogénéité anatomique du cerveau est souvent un frein au développement des thérapeutiques systémiques.

La thérapie génique *ex vivo*, requiert une première étape par laquelle le gène d'intérêt est introduit dans des cellules exogènes de diverses origines possibles (cellules embryonnaires, cellules souches). Ces cellules sont, dans une deuxième étape, réimplantées dans le tissu nerveux pour produire l'effet thérapeutique escompté.

À l'heure actuelle, les systèmes les plus efficaces pour faire exprimer des gènes d'intérêt (*in vivo*) au niveau du tissu nerveux sont basés sur l'utilisation de vecteurs viraux, bien que d'autres méthodes alternatives (lipoplexes, polyplexes, électroporation...) qui semblent pour l'instant moins efficaces restent encore à explorer. Différents vecteurs viraux sont actuellement utilisés : les AAV (adeno-associated virus) et les lentivirus.

Les AAV sont des petits virus, défectifs pour la réplication. Ils peuvent infecter l'homme, mais ils n'ont pas d'effet pathogène connu. Les vecteurs AAV ont un bon profil de sécurité et, lorsqu'ils sont administrés dans le système nerveux central, la réponse inflammatoire qu'ils entraînent est minimale. Il existe de nombreux sérotypes d'AAV présentant chacun un tropisme neuronal ou glial distinct. Les vecteurs AAV possèdent cependant certaines contraintes. Premièrement, les capacités de clonage limitées ne leur permettent pas de contenir des gènes de grande taille ou des systèmes complexes de régulation de l'expression du transgène. Deuxièmement, ils ne s'intègrent pas dans la chromatine de la cellule cible. Les vecteurs lentiviraux permettent de pallier à ces deux inconvénients. D'une part, ils ont une capacité de clonage double des AAV. D'autre part, ils appartiennent à la famille des rétrovirus et donc s'intègrent dans la chromatine de la cellule. Ainsi lors des divisions cellulaires, le vecteur viral sera transmis à toutes les cellules filles sans dilution d'expression des transgènes. Enfin, lors de la construction d'un vecteur, le ciblage est une contrainte importante à prendre en considération. L'optimisation de ce paramètre passe par le choix du sérotype du vecteur AAV qui va transduire spécifiquement des cellules cibles, mais également par l'utilisation de séquences promotrices qui vont permettre de restreindre l'expression du transgène à une population précise de cellules.

Applications de la thérapie génique en neurologie

L'origine souvent multigénique des maladies du système nerveux central permet difficilement de développer des stratégies permettant de corriger au niveau somatique un gène pathologique dans les maladies du système nerveux. Seules des approches de thérapie génique permettant d'inhiber la synthèse d'une protéine dans des maladies monogéniques, telle que la maladie de Huntington en inhibant l'expression de la protéine Huntingtine mutée, est actuellement la voie la plus prometteuse (Bates *et al.* 2015).

Par ailleurs, bien que la physiopathologie des maladies neuro-dégénératives reste mal connue, les recherches sur les phénomènes de dégénérescence neuronale ont identifié des mécanismes de type déficit mitochondrial, détoxification défaillante des radicaux libres, activation de protéases spécifiques, agrégation de protéines telles que l' α -synucléine pour la maladie de Parkinson, dont les acteurs moléculaires constitueraient des cibles thérapeutiques potentielles. Sur cette base, des outils de thérapie génique de type "neuroprotection" ont été conçus pour tenter de ralentir les processus dégénératifs en agissant au niveau intracellulaire. De ce fait les stratégies neuroprotectrices faisant appel aux facteurs trophiques (GDNF², Neurturin, CNTF³), dont les propriétés pléiotropes peuvent induire des effets à distance de leur lieu de production ont été évaluées dans la MP.

Facteurs trophiques et neuroprotection dans la maladie de Parkinson

Le premier programme de recherche en thérapie génique sur les facteurs trophiques a utilisé le vecteur AAV2. Son objectif était de stimuler les cellules dopaminergiques afin de protéger les neurones contre la dégénérescence avec un analogue du GDNF : la Neurturin. Après avoir démontré l'innocuité, la tolérance et l'efficacité de cette molécule chez le primate non-humain (Kordower *et al.* 2000), un essai de phase 1/2 a montré chez des patients souffrant d'une forme avancée de la MP, une bonne tolérance et des éléments encourageants d'efficacité. Tout comme les études des fVM dans la MP, les études cliniques randomisées de phase 2b contre placebo n'ont pas montré d'effets cliniques significatifs cessant tous les programmes de développement clinique de la thérapie génique AAV2-Neurturin (Mark *et al.* 2010 ; Olanow *et al.* 2015). Il existe plusieurs raisons à cela ; la principale étant que les patients inclus dans l'essai clinique étaient à un stade de la maladie trop avancé pour espérer induire une neuroprotection (Kordower *et al.* 2013). De plus, la dénervation dopaminergique striatale était telle qu'il était difficile d'obtenir un effet trophique à partir des neurones restants. Il est également à signaler que des patients souffrant d'une atrophie multi-systématisée ont été inclus par erreur dans ces études altérant fortement l'analyse statistique du bénéfice clinique (Bartus *et al.* 2015).

(2) Glial Cell-derived Neurotrophic Factor

(3) Ciliary Neurotrophic Factor

Restauration enzymatique par thérapie génique

L'une des conséquences de la déplétion dopaminergique observée dans la MP est une réduction d'activité des enzymes indispensables à la biosynthèse de la dopamine au niveau du striatum: l'AADC (décarboxylase des acides aminés aromatiques), la TH (tyrosine hydroxylase) et le CH1 (GTP-cyclohydrolase 1). Ainsi, plusieurs équipes ont entrepris de restaurer ces activités enzymatiques déficientes en apportant les gènes nécessaires à leur synthèse, directement au niveau du noyau effecteur du système dopaminergique : le striatum. Cette stratégie a pour avantage d'apporter la dopamine de manière plus physiologique en conservant une production locale et continue plutôt qu'une administration orale discontinue.

La thérapie génique dite « prodrug » AAV-AADC

Cette approche de thérapie génique a pour objectif d'induire un effet symptomatique en améliorant l'effet de la prise de L-Dopa orale. L'enzyme AADC qui convertit la L-Dopa en Dopamine est déficiente de manière progressive dans la MP. Ce déficit en AADC dans le striatum est l'un des principaux facteurs de la baisse d'efficacité de la L-Dopa exogène en administration orale. Les études dans les modèles animaux primates de la MP ont montré que des doses basses de L-Dopa associées avec l'expression d'AADC par les neurones striataux pouvaient induire les mêmes effets symptomatiques que les fortes doses de L-Dopa (Bankiewicz *et al.* 2006). Avec cette méthode thérapeutique, des doses plus basses de L-Dopa exogène chez les patients pourraient ainsi réduire ou bien retarder l'apparition des complications motrices telles que les dyskinésies de pic de dose de L-Dopa. Une première étude de phase 1 évaluant l'administration striatale d'AAV-AADC a montré une bonne tolérance du vecteur, de l'expression d'AADC avec quelques signes encourageants d'efficacité (Mittermeyer *et al.* 2012).

La thérapie génique de la dopamine continue, Lenti-TH-AADC-CH1

Cette approche de thérapie génique a deux principaux objectifs ; induire une sécrétion locale et continue de dopamine dans le striatum et faciliter la conversion de L-Dopa orale exogène en dopamine par la restauration de l'activité AADC par les neurones génétiquement modifiés par le lentivirus EIAV. Le transfert de gènes de trois enzymes - AADC (décarboxylase des acides aminés aromatiques), TH (tyrosine hydroxylase, une oxydoréductase de la L-Tyrosine) et CH1 (GTP-cyclohydrolase 1, le cofacteur indispensable à la réaction de catalyse de la L-Tyrosine par la TH) – nécessite cette fois de faire appel à un lentivirus développé à partir du virus de l'anémie infectieuse équine (equine infectious anemia virus, EIAV) en raison de ces grandes capacités de transport de matériel génétique.

Ainsi, dans le cadre d'une recherche translationnelle dans des modèles rongeurs et primates de la MP, il a été établi que le

transfert de gènes par EIAV-TH-AADC-CH1 dans le striatum, pouvait induire la production de dopamine *in vivo* de façon locale et continue, tout d'abord dans le cadre d'études non cliniques dans des modèles primates de la MP puis chez des patients souffrant d'une forme évoluée de la MP (Azzouz *et al.* 2002; Jarraya *et al.* 2009 ; Palfi *et al.* 2014).

Ainsi, il a été démontré, sur le long terme (quatre ans) l'innocuité, la tolérance et des signes d'efficacité thérapeutique qui semblent dépendants de la dose administrée (trois niveaux de doses croissantes (1x, 2x et 5x) ont été testés) puisque les patients ayant reçu les plus fortes doses ont montré une meilleure réponse clinique. L'imagerie par tomographie par émission de positons a montré une augmentation de production de dopamine dans les zones du striatum moteur ayant reçu l'injection d'EIAV-TH-AADC-CH1 par rapport aux régions du striatum non injectées (Palfi *et al.* 2014). Avant la réalisation de la phase clinique 2b, randomisée contre chirurgie placébo,

les auteurs de cette approche thérapeutique souhaitent maintenant accroître les niveaux de sécrétion de dopamine dans les régions motrices du striatum pour plus d'efficacité, augmenter la distribution de l'EIAV-TH-AADC-CH1 vers les régions non-motrices striatales et améliorer la sélection des patients.

CONCLUSION

Depuis plus de 30 ans, de grandes avancées scientifiques et médicales ont été réalisées dans les biothérapies pour la MP sans que ces techniques ne soient encore considérées comme suffisamment compétitives par rapport aux traitements médicaux et à la stimulation cérébrale. Nous assistons cependant ces dernières années à une accélération considérable de la maîtrise de ces techniques de thérapies cellulaire et génique les rendant chaque jour plus proches d'une application thérapeutique pour la maladie de Parkinson.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont vers les membres de l'équipe de recherche clinique et fondamentale IMRB U 955 Eq.14 ainsi que l'Association pour la Recherche sur la Stimulation Cérébrale, ARSC.

BIBLIOGRAPHIE

- Azzouz M, Martin-Rendon E, Barber RD, Mitrophanous KA, Carter EE, Rohll JB *et al.* Multicistronic lentiviral vector-mediated striatal gene transfer of aromatic L-amino acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase, and GTP cyclohydrolase I induces sustained transgene expression, dopamine production, and functional improvement in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* 2002;22(23):10302–12.
- Arjona V, Minguez-Castellanos A, Montoro RJ, Ortega A, Escamilla F, Toledo-Aral JJ *et al.* Autotransplantation of human carotid body cell aggregates for treatment of Parkinson's disease. *Neurosurgery* 2003;53:321–8.
- Bankiewicz K, Forsayeth J, Eberling JL, Sanchez-Pernaute R, Pivrotto P, Bringas J *et al.* Long-Term Clinical Improvement in MPTP-Lesioned Primates after Gene Therapy with AAV-hAADC. *Molecular Therapy* 2006;14:564–70.
- Barker RA, Barrett J, Mason SL, Björklund A. Fetal dopaminergic transplantation trials and the future of neural grafting in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2013;12:84–91.
- Bartus RT, Kordower JH, Johnson EM Jr, Brown L, Kruegel BR, Chu Y *et al.* Post-mortem assessment of the short and long-term effects of the trophic factor neurturin in patients with α -synucleinopathies. *Neurobiol Dis.* 2015;78:162–71.
- Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, Hayden MR, Kay C, Leavitt BR *et al.* Huntington disease. *Nat.Rev.Dis. Primers* 2015; 1:15005.
- Bernheimer H, Birkmayer W, Hornykiewicz O, Jellinger K, Seitelberger F. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington - clinical, morphological and neurochemical correlations. *J Neurol Sci.* 1973;20:415–55.
- Björklund A and Stenevi U. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res.* 1979;177:555–60.
- Brundin P, Widner H, Nilsson OG, Strecker RE, Björklund A. Intracerebral xenografts of dopamine neurons: the role of immunosuppression and the blood brain barrier. *Exp Brain Res.* 1989;75:195–207.
- Cooper O, Hargus G, Deleidi M, Blak A, Osborn T, Marlow E *et al.* Differentiation of human ES and Parkinson's disease iPS cells into ventral midbrain dopaminergic neurons requires a high activity form of SHH, FGF8a and specific regionalization by retinoic acid. *Mol Cell Neurosci.* 2010;45:258–66.
- Dunnett SB, Björklund A, Stenevi U, Iversen SD. Behavioral recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. I. Unilateral lesions. *Brain Res.* 1981;215:147–61.
- Dunnett SB, Isacson O, Sirinathsinghji DJ, Clarke DJ, Björklund A. Striatal graft in rats with unilateral neostriatal lesions; III. Recovery from dopamine -dependant motor asymmetry and deficits in skilled paw reaching. *Neurosci.* 1988;24:813–20.
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, *et al.* Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2001; 344(10):710–9.
- Freeman TB, Olanow CW, Hauser RA, Nauert GM, Smith DA, Borlongan CV *et al.* Bilateral fetal nigral transplantation into the postcommissural putamen in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1995;38:379–88.
- Goetz CG, Olanow CW, Koller WC, Penn RD, Cahill D, Morantz R *et al.* Multicenter study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 1989;320:337–41.
- Grealish S, Diguett E, Kirkeby A, Mattsson B, Heuer A, Bramouille Y *et al.* Human ESC-derived dopamine neurons show similar pre-clinical efficacy and potency to fetal neurons when grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Stem Cell* 2014;5:653–65.
- Gross RE, Watts RL, Hauser RA, Bakay RA, Reichmann H, von Kummer R *et al.* Intrastriatal transplantation of microcarrier-bound human retinal pigment epithelial cells versus sham surgery in patients with advanced Parkinson's disease : a double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Neurol.* 2011;10:509–519.
- Hagell P, Piccini P, Björklund A, Brundin P, Rehncrona S, Widner H *et al.* Dyskinesia following neural transplantation in Parkinson's disease. *Nat Neurosci.* 2002;5:627–8.

- Hargus G, Cooper O, Deleidi M, Levy A, Lee K, Marlow E *et al.* Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in parkinsonian rats. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:15921–6.
- Isacson O & Deacon T. Neural transplantation studies reveal the brain's capacity for continuous reconstruction. *Trends Neurosci.* 1997;20:477–82.
- Jarraya B, Boulet S, Ralph GS, Jan C, Bonvento G, Azzouz M *et al.* Dopamine gene therapy for Parkinson's disease in a nonhuman primate without associated dyskinesia. *Sci Transl Med.* 2009;1(2):2–4.
- Kawasaki H, Mizuseki K, Nishikawa S, Kaneko S, Kuwana Y, Nakanishi S *et al.* Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Neuron* 2000;28:31–40.
- Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N *et al.* Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002;418:50–56.
- Kordower JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerhoets FJ, Mufson EJ, Sanberg PR *et al.* Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 1995;332:1118–24.
- Kordower JH, Ekberg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L *et al.* Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. *Science* 2000;290(5492):767–73.
- Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, Chu Y, Beach TG, Adler CH *et al.* Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain* 2013;136(Pt 8): 2419–31.
- Kriks S, Shim JW, Piao J, Ganat YM, Wakeman DR, Xie Z *et al.* Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. *Nature* 2011;480:547–51.
- Limousin P, Pollak P, Benazzouz A, Hoffmann D, Le Bas JF, Broussolle E *et al.* Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet* 1995 ;345(8942):91–5.
- Lindvall O, Brundin P, Widner H, Rehnrcrona S, Gustavii B, Frackowiak R *et al.* Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990;247:574–7.
- Ma Y, Feigin A, Dhawan V, Fukuda M, Shi Q, Greene P *et al.* Dyskinesia after fetal cell transplantation for parkinsonism : a PET study *Ann Neurol.* 2002;52:628–34.
- Madrazo I, Drucker-Colin R, Diaz V, Martinez-Mata J, Torres C, Becerril JJ. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 1987;316:831–4
- Marks WJ Jr, Bartus RT, Siffert J, Davis CS, Lozano A, Boulis N *et al.* Gene delivery of AAV2- neurturin for Parkinson's disease: a double-blind, randomized, controlled trial. *Lancet Neurol.* 2010; 9:1164–72.
- Marty S & Peschanski M. Effect of target deprivation on the morphology and survival of adult dorsal column nuclei neurons. *J comp Neurol.* 1995;356:523–36.
- Minguéz-Castellanos A, Escamilla-Sevilla F, Hottot GR, Toledo-Aral JJ, Ortega-Moreno A, Mendez-Ferrer S *et al.* Carotid body autotransplantation in Parkinson's disease : a clinical and positron emission tomography study. *J Neurol Neurosurg. Psychiatry* 2007;78:825–31.
- Mittermeyer G, Christine CW, Rosenbluth KH, Baker SL, Starr P, Larson P *et al.* Long-term evaluation of a phase 1 study of AADC gene therapy for Parkinson's disease. *Hum Gene Ther.* 2012;23:377–81.
- Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF *et al.* A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2003;54:403–14.
- Olanow WC, Bartus RT, Baumann TL, Factor S, Boulis N, Stacy M *et al.* Gene delivery of neurturin to putamen and substantia nigra in Parkinson disease: A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Neurol.* 2015; 78(2):248–57.
- Palfi S, Gurruchaga JM, Ralph GS, Lepetit H, Lavisse S, Buttery PC *et al.* Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet* 2014;383:1138–46.
- Park CH, Minn YK, Lee JY, Choi DH, Chang MY, Shim JW *et al.* *In vitro* and *in vivo* analyses of human embryonic stem cell-derived dopamine neurons. *J Neurochem.* 2005;92:1265–76.
- Perrier AL, Tabar V, Barberi T, Rubio ME, Bruses J, Topf N *et al.* Derivation of midbrain dopamine neurons from human stem cells *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101:12543–8.
- Peschanski M, Defer G, N'Guyen JP, Ricolfi F, Monfort JC, Remy P *et al.* Bilateral motor improvement and alteration of L-Dopa effect in two patients with Parkinson's disease following intrastriatal transplantation of foetal ventral mesencephalon. *Brain* 1994;117:487–99.
- Placzek M & Briscoe J. The floor plate : multiple cells, multiple signals. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005;6:230–240.
- Politis M, Wu K, Loane C, Quinn NP, Brooks DJ, Rehnrcrona S *et al.* Serotonergic neurons mediate dyskinesia side effects in Parkinson's patients with neural transplants. *Sci Transl Med.* 2010;2:38–46.
- Politis M, Oertel WH, Wu K, Quinn NP, Oogarell O, Brooks DJ *et al.* Graft-induced dyskinesia in Parkinson's disease : high striatal serotonin/dopamine transporter ratio. *Mov Disord.* 2011;26:1997–2003.
- Rath A, Klein A, Papazoglou A, Pruszk J, Garcia J, Krause M *et al.* Survival and functional restoration of human fetal ventral mesencephalon following transplantation in a rat model of Parkinson's disease. *Cell Transplant.* 2013;22:1281–93.
- Rezaei AR, Kopell BH, Gross RE, Vitek JL, Sharan AD, Limousin P, Benabid AL. Deep brain stimulation for Parkinson's disease: surgical issues. *Mov Disord.* 2006 Jun 21 (Suppl 14):S197–218.
- Roy NS, Cleren C, Singh SK, Yang L, Beal MF, Goldman SA. Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nat Med.* 2006;12:1259–68.
- Schumacher JM, Elias SA, Palmer EP, Kott HS, Dinsmore J, Dempsey PK *et al.* Transplantation of embryonic porcine mesencephalic tissue in patients with PD. *Neurology* 2000;54:1042–50.
- Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG *et al.* Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell* 2009;136:964–77.
- Stover NP & Watts RL Spharamine for treatment of Parkinson's disease. *Neurotherapeutics* 2008;5:252–9.
- Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. *Nat Protoc.* 2007;2:3081–9.
- TRANSEURO 2014 [online], <http://www.transeuro.org.uk/>
- Widner H, Tetrad J, Rehnrcrona S, Snow B, Brundin P, Gustavii B *et al.* Bilateral fetal mesencephalic grafting in two patients with parkinsonism induced by 1methyl-4phenyl1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *N Engl J Med.* 1992;327:1556–63.
- Wenning GK, Odin P, Morrish P, Rehnrcrona S, Widner H, Brundin P *et al.* Short and long-term survival and function of unilateral intrastriatal dopaminergic grafts in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1997;42:95–107.
- Yang D, Zhang ZJ, Oldenburg M, Ayala M, Zhang SC. Human embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons reverse functional deficit in parkinsonian rats. *Stem Cells* 2008;26:55–63.